

# 4. Kopplung

## Konzepte:

➡ Gekoppelte Vererbung

➡ Doppel-Crossover

➡ Genkarten

➡ Interferenz

➡ Statistik

1. Sie analysieren die Kopplungsverhältnisse von 3 Mutationen in *Drosophila melanogaster* (*scute* [**sc**; keine Thoraxborsten], *echinus* [**ec**; rauhe Augen] und *vestigial* [**vg**] Stummel-flügel). Zu diesem Zwecke wird ein Fliege die alle drei Mutationen homozygot trägt mit einem Wildtyp gekreuzt. Anschließend werden die F<sub>1</sub> Nachkommen mit einem Tester gekreuzt. Dabei entstehen folgende Nachkommen:

Nachkommen			Frequenz	Bemerkungen
<i>sc</i>	<i>ec</i>	<i>vg</i>	235	<i>parental</i>
+	+	+	241	<i>parental</i>
<i>sc</i>	<i>ec</i>	+	243	
+	+	<i>vg</i>	233	
<i>sc</i>	+	<i>vg</i>	12	
+	<i>ec</i>	+	14	
<i>sc</i>	+	+	14	
+	<i>ec</i>	<i>vg</i>	16	
			1008	

- Wie häufig sollte jeder Genotyp auftauchen, wenn keine Kopplung zwischen den Genen vorliegt?
- Welche Gene sind gekoppelt?
- Berechnen Sie den Abstand zwischen den Genen.



2. Sie analysieren die Kopplungsverhältnisse von 3 Genen (A, B, C; a, b, c). Zu diesem Zwecke wird folgende Kreuzung durchgeführt:

++ aa bb x cc ++ ++

Anschliessend werden die F1 Nachkommen mit einem Tester gekreuzt. Dabei entstehen folgende Nachkommen:

Nachkommen			Frequenz	Bemerkungen
c	+	+	580	parental
+	b	a	592	parental
c	b	+	45	
+	+	a	40	
c	b	a	89	
+	+	+	94	
c	+	a	3	
+	b	+	5	
			1448	

- Welche Gene sind gekoppelt?
- Erstellen Sie eine Genkarte.
- Berechnen Sie die Anzahl der *erwarteten* Doppelrekombinationsereignisse (unter Anwendung der Produktregel).
- Berechnen Sie den "*Koeffizienten der Koinzidenz*" und die "*Interferenz*".

P            ++ aa bb    x    cc ++ ++

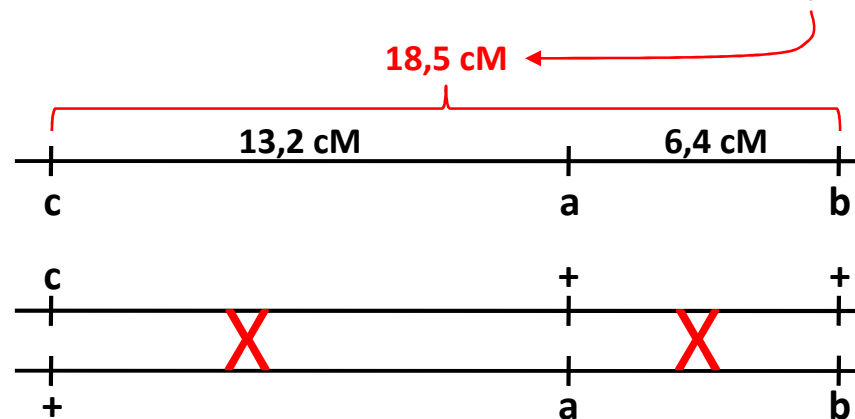
F1            a+ b+ c+    x    aa bb cc

Nachkommen			Frequenz	Bemerkungen
c	+	+	580	parental
+	b	a	592	parental
c	b	+	45	* *
+	+	a	40	* *
c	b	a	89	* *
+	+	+	94	* *
c	+	a	3	* *
+	b	+	5	* *
			1448	

Rekombination zwischen c und a: **191**  $\approx 13,2\%$

Rekombination zwischen a und b: **93**  $\approx 6,4\%$

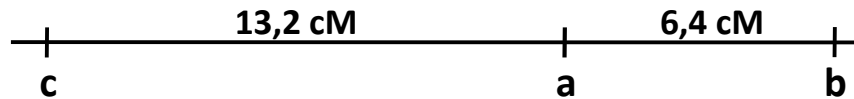
Rekombination zwischen c und b: **268**  $\approx 18,5\%$



R zw. c und b inkl. Doppelrek.:

$$268 + (3 + 5) \times 2 = 19,6 \%$$

Erfolgen Crossing-over Ereignisse unabhängig voneinander?



c – a Rekombinationsfrequenz = 0,132

a – b Rekombinationsfrequenz = 0,064

Wahrscheinlichkeit des Auftretens von Doppelrekombinanten → Produktregel:

$$0,132 \times 0,064 = 0,0084 \quad \rightarrow \quad 0,0084 \times 1448 = 12 \quad \text{erwartet}$$

8 beobachtet

**Interferenz** = ein Crossing-over beeinflusst Crossing-over Ereignisse in der Nachbarschaft

**I** = 1 – c.o.c. (Koeffizient der Koinzidenz)

$$= 1 - \frac{\text{Anzahl beobachtete Doppelrekombinante}}{\text{Anzahl erwartete Doppelrekombinante}}$$

$$= 1 - \frac{8}{12} = 1/3 = 0,33 \quad \text{c.o.c.} = 0 \rightarrow \mathbf{I} = 1 \rightarrow \text{komplette Interferenz}$$

## Wie erstellt man eine Genkarte/Kopplungskarte?

1. Berechnung der RF für jedes Genpaar
2. Darstellung der Kopplung
3. Bestimmung der Doppelrekombinanten
4. Berechnung der erwarteten Doppelrekombinanten
5. Berechnung der Interferenz

3. Sie analysieren die Kopplungsverhältnisse von 2 Genen (A, B; a, b). Zu diesem Zwecke wird folgende Kreuzung durchgeführt:

aa bb (Elter 1) X AA BB (Elter 2)

Anschließend werden die F<sub>1</sub> Nachkommen mit einem Tester gekreuzt. Dabei entstehen folgende Nachkommen:

Nachkommen	Frequenz	Bemerkungen
AB	140	<i>parental</i>
ab	135	<i>parental</i>
Ab	110	
aB	115	
500		

Analysieren Sie mit Hilfe eines  $\chi^2$  (Chi-Quadrat) Tests, ob A und B gekoppelte oder nicht-gekoppelt Gene sind.



P            aa bb   x   WT

F1           a+ b+   x   aa bb

Nachkommen	Frequenz	Bemerkungen
AB	140	<i>parental</i>
ab	135	<i>parental</i>
Ab	110	} $\frac{225}{500} = 45\%$
aB	115	
500		

RF nahe, aber < 50% → Kopplung?

Unabhängige Spaltung → 1 : 1 : 1 : 1 → 125 : 125 : 125 : 125

Voraussetzungen:

1. Keinerlei Kopplung zwischen A und B
2. Gleiche Überlebensfähigkeit (viability) aller Allelkombinationen  
→ homozygot rezessive (z.B. aabb) weisen oft nachteilige Effekte auf die Überlebensfähigkeit auf → Lethalität

→ Methode zur Berechnung der erwarteten Spaltung unter Einbeziehung der Fitness einzelner Allele benötigt!

Nachkommen	Frequenz	$E_i$	Bemerkungen
AB	140	127,5	<i>parental</i>
ab	135	122,5	<i>parental</i>
Ab	110	122,5	
aB	115	127,5	
500			

Allelfrequenz = relative Häufigkeit  $p$  eines Allels in einer Population

Wenn Überlebensfähigkeit von  $a = A$ , dann  $p(a) = p(A) = 0,5$  bzw. 50%

$$p(A) = (140 + 110)/500 = 0,50$$

$$p(a) = (135 + 115)/500 = 0,50$$

$$p(B) = (140 + 115)/500 = 0,51$$

$$p(b) = (135 + 110)/500 = 0,49$$

$$p(AB) = 0,50 \times 0,51 = 0,255 \rightarrow 0,255 \times 500 = 127,5$$

$$p(ab) = 0,50 \times 0,49 = 0,245 \rightarrow 0,245 \times 500 = 122,5$$

$$p(Ab) = 0,50 \times 0,49 = 0,245 \rightarrow 0,245 \times 500 = 122,5$$

$$p(aB) = 0,50 \times 0,51 = 0,255 \rightarrow 0,255 \times 500 = 127,5$$

Nachkommen	$B_i$	$E_i$	Bemerkungen
AB	140	127,5	<i>parental</i>
ab	135	122,5	<i>parental</i>
Ab	110	122,5	
aB	115	127,5	
<hr/>			
	500		

$\chi^2$  Test: statistische Methode zur Berechnung der Abweichung von Vorhersagen

$\chi^2$  Wert: gibt die Wahrscheinlichkeit  $p$  an, dass die Abweichung zwischen beobachtetem und erwartetem Wert auf Zufall beruht

Fragestellung: Weichen die beobachteten Häufigkeiten  $B_i$  unserer Stichprobe signifikant von den erwarteten Häufigkeiten  $E_i$  ab?

Die Berechnung von  $\chi^2$  :

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^n \frac{(\text{beobachtete Häufigkeit} - \text{erwartete Häufigkeit})^2}{\text{erwartete Häufigkeit}} = \sum_{i=1}^n \frac{(B_i - E_i)^2}{E_i}$$

wobei  $n$  = Anzahl der Merkmalsklassen

Nachkommen	$B_i$	$E_i$	$B_i - E_i$	$\frac{(B_i - E_i)^2}{E_i}$	Bemerkungen
AB	140	127,5	12,5	1,23	parental
ab	135	122,5	12,5	1,28	parental
Ab	110	122,5	-12,5	1,28	rekombinant
aB	115	127,5	-12,5	1,23	rekombinant
	500			$\Sigma \chi^2 = 5,02$	

$n = 2$

df = Freiheitsgrade  
(degree of freedom)  
=  $n - 1$  bzw. Anzahl  
unabh. Abweichungen  
zw.  $B_i$  und  $E_i$

TABLE C:  $\chi^2$  CRITICAL VALUES

df	Tail probability $p$										
	.25	.20	.15	.10	.05	.025	.02	.01	.005	.0025	.001
1	1.32	1.64	2.07	2.71	3.84	5.02	5.41	6.63	7.88	9.14	10.83
2	2.77	3.22	3.79	4.61	5.99	7.38	7.82	9.21	10.60	11.98	13.82
3	4.11	4.64	5.32	6.25	7.81	9.35	9.84	11.34	12.84	14.32	16.27
4	5.39	5.99	6.74	7.78	9.49	11.14	11.67	13.28	14.86	16.42	18.47
5	6.63	7.29	8.12	9.24	11.07	12.83	13.39	15.09	16.75	18.39	20.51
6	7.84	8.56	9.45	10.64	12.59	14.45	15.03	16.81	18.55	20.25	22.46
7	9.04	9.80	10.75	12.02	14.07	16.01	16.62	18.48	20.28	22.04	24.32
8	10.22	11.03	12.03	13.36	15.51	17.53	18.17	20.09	21.95	23.77	26.12
9	11.39	12.24	13.29	14.68	16.92	19.02	19.68	21.67	23.59	25.46	27.88
10	12.55	13.44	14.53	15.99	18.31	20.48	21.16	23.21	25.19	27.11	29.59
11	13.70	14.63	15.77	17.28	19.68	21.92	22.62	24.72	26.76	28.73	31.26
12	14.85	15.81	16.99	18.55	21.03	23.34	24.05	26.22	28.30	30.32	32.91
13	15.98	16.98	18.20	19.81	22.36	24.74	25.47	27.69	29.82	31.88	34.53
14	17.12	18.15	19.41	21.06	23.68	26.12	26.87	29.14	31.32	33.43	36.12
15	18.25	19.31	20.60	22.31	25.00	27.49	28.26	30.58	32.80	34.95	37.70

$\chi^2_{Vers} \leq \chi^2_{Tab} \rightarrow$  keine Abweichung zw.  $B_i$  u.  $E_i \rightarrow$  freie Spaltung

$\chi^2_{Vers} > \chi^2_{Tab} \rightarrow B_i$  abweichend von  $E_i \rightarrow$  Kopplung

$\leftarrow 5,02 > 3,84$

Wahrscheinlichkeit, dass sich die beobachteten Abweichungen nur durch Zufall erklären lassen, beträgt ca. 2,5%

→ 95% Konfidenzintervall ( $\alpha=0,05$ ) allgemein anerkannter Schwellenwert

→ Kopplung!

TABLE C:  $\chi^2$  CRITICAL VALUES

	Tail probability $p$										
df	.25	.20	.15	.10	.05	.025	.02	.01	.005	.0025	.001
1	1.32	1.64	2.07	2.71	3.84	5.02	5.41	6.63	7.88	9.14	10.83
2	2.77	3.22	3.79	4.61	5.99	7.38	7.82	9.21	10.60	11.98	13.82
3	4.11	4.64	5.32	6.25	7.81	9.35	9.84	11.34	12.84	14.32	16.27
4	5.39	5.99	6.74	7.78	9.49	11.14	11.67	13.28	14.86	16.42	18.47
5	6.63	7.29	8.12	9.24	11.07	12.83	13.39	15.09	16.75	18.39	20.51
6	7.84	8.56	9.45	10.64	12.59	14.45	15.03	16.81	18.55	20.25	22.46
7	9.04	9.80	10.75	12.02	14.07	16.01	16.62	18.48	20.28	22.04	24.32
8	10.22	11.03	12.03	13.36	15.51	17.53	18.17	20.09	21.95	23.77	26.12
9	11.39	12.24	13.29	14.68	16.92	19.02	19.68	21.67	23.59	25.46	27.88
10	12.55	13.44	14.53	15.99	18.31	20.48	21.16	23.21	25.19	27.11	29.59
11	13.70	14.63	15.77	17.28	19.68	21.92	22.62	24.72	26.76	28.73	31.26
12	14.85	15.81	16.99	18.55	21.03	23.34	24.05	26.22	28.30	30.32	32.91
13	15.98	16.98	18.20	19.81	22.36	24.74	25.47	27.69	29.82	31.88	34.53
14	17.12	18.15	19.41	21.06	23.68	26.12	26.87	29.14	31.32	33.43	36.12
15	18.25	19.31	20.60	22.31	25.00	27.49	28.26	30.58	32.80	34.95	37.70

$\chi^2_{Vers} \leq \chi^2_{Tab} \rightarrow$  keine Abweichung zw.  $B_i$  u.  $E_i \rightarrow$  freie Spaltung

$\chi^2_{Vers} > \chi^2_{Tab} \rightarrow B_i$  abweichend von  $E_i \rightarrow$  Kopplung

← 5,02 > 3,84

Nachkommen	$B_i$	$E_i$	$B_i - E_i$	$\frac{(B_i - E_i)^2}{E_i}$	Bemerkungen
AB	140	127,5	12,5	1,23	parental
ab	135	122,5	12,5	1,28	parental
Ab	110	122,5	-12,5	1,28	rekombinant
aB	115	127,5	-12,5	1,23	rekombinant
	500			$\Sigma \chi^2 = 5,02$	

$n = 4$

df = Freiheitsgrade  
(degree of freedom)  
 $= n - 1$

TABLE C:  $\chi^2$  CRITICAL VALUES

df	Tail probability $p$										
	.25	.20	.15	.10	.05	.025	.02	.01	.005	.0025	.001
1	1.32	1.64	2.07	2.71	3.84	5.02	5.41	6.63	7.88	9.14	10.83
2	2.77	3.22	3.79	4.61	5.99	7.38	7.82	9.21	10.60	11.98	13.82
3	4.11	4.64	5.32	6.25	7.81	9.35	9.84	11.34	12.84	14.32	16.27
4	5.39	5.99	6.74	7.78	9.49	11.14	11.67	13.28	14.86	16.42	18.47
5	6.63	7.29	8.12	9.24	11.07	12.83	13.39	15.09	16.75	18.39	20.51
6	7.84	8.56	9.45	10.64	12.59	14.45	15.03	16.81	18.55	20.25	22.46
7	9.04	9.80	10.75	12.02	14.07	16.01	16.62	18.48	20.28	22.04	24.32
8	10.22	11.03	12.03	13.36	15.51	17.53	18.17	20.09	21.95	23.77	26.12
9	11.39	12.24	13.29	14.68	16.92	19.02	19.68	21.67	23.59	25.46	27.88
10	12.55	13.44	14.53	15.99	18.31	20.48	21.16	23.21	25.19	27.11	29.59
11	13.70	14.63	15.77	17.28	19.68	21.92	22.62	24.72	26.76	28.73	31.26
12	14.85	15.81	16.99	18.55	21.03	23.34	24.05	26.22	28.30	30.32	32.91
13	15.98	16.98	18.20	19.81	22.36	24.74	25.47	27.69	29.82	31.88	34.53
14	17.12	18.15	19.41	21.06	23.68	26.12	26.87	29.14	31.32	33.43	36.12
15	18.25	19.31	20.60	22.31	25.00	27.49	28.26	30.58	32.80	34.95	37.70

$\chi^2_{Vers} \leq \chi^2_{Tab} \rightarrow$  keine Abweichung zw.  $B_i$  u.  $E_i \rightarrow$  freie Spaltung

$\chi^2_{Vers} > \chi^2_{Tab} \rightarrow B_i$  abweichend von  $E_i \rightarrow$  Kopplung

$\leftarrow 5,02 < 7,81$